

УДК 576.895.772; 591.342

**ВЫЖИВАЕМОСТЬ ЛИЧИНОК ОВЕЧЬЕГО ОВОДА OESTRUS OVIS L.  
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТОЯНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ  
ОРГАНИЗМА ХОЗЯИНА**

**В. А. Марченко, В. П. Марченко**

В опытах с искусственным инвазированием изучена выживаемость личинок овечьего овода в организме овец с депрессированной, нормальной и стимулированной иммунной системой. Максимально выжило личинок у иммунодепрессированных — 62,9 %, минимально у иммуностимулированных животных — 0,4 %. При оценке характера специфического иммунного ответа использовались реакции РНГА, РДП, ИФА.

Овечий овод — широко распространенный паразит овец, наносящий много-миллионный ущерб овцеводству страны. Своеобразие жизненного цикла насекомого, сложность пространственной структуры популяции и ряд других объективно существующих причин не позволяют надеяться на быстрый успех в ограничении численности вредителя до экономически неощутимого уровня.

Исследованиями последних лет установлено, что популяция овода в полном объеме доступна для проведения ограничительных мероприятий только в период нахождения личинок в организме хозяина. Поэтому существующая система мер в основном и сводится к воздействию инсектицидами на паразитическую фазу. Поиски других путей (биологизация методов контроля численности) требуют углубленного знания механизмов хозяино-паразитарных отношений как на популяционном, так и других уровнях структурно-функциональной организации (организменной, тканевой и т. д.).

В настоящее время хорошо известно, что при естественной регуляции численности основная часть популяции овода элиминируется на личиночной фазе в пределах системы «паразит—хозяин». Рядом отечественных и зарубежных исследователей (Rogers, Кнапп, 1973; Сивков, 1978; Мигунов, Тимофеев, 1980; Семенов, 1981) установлено, что гибель овода в организме хозяина достигает 90—95 % и значение смертности личинок находится в обратной зависимости от их возраста (Марченко, 1985). Хотя в литературе и существуют некоторые указания на возможные причины гибели личинок в организме хозяина (Бреев, Минарж, 1981; Марченко, 1983, и др.), но специального изучения не проводилось, и конкретная оценка причин гибели соответственно отсутствует. Поэтому мы попытались оценить влияние уровня иммунного ответа организма хозяина на выживаемость личинок на раннем этапе паразитирования.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Опыты проведены в 1982—1986 гг. на 16 ягнятах текущего и 2 прошлого года рождения соответственно равных по весу и возрасту. В летний период животных содержали в закрытых помещениях, что исключало спонтанное

инвазирование животных личинками овода. Опытных ягнят искусственно заражали личинками I стадии, полученными от мух, содержащихся в садках. Самок овода, проявлявших признаки активности, вскрывали, извлекали маточный приемник, помещали его в каплю физиологического раствора на часовом стекле и просматривали под бинокулярной лупой. Для заражения отбирали зрелых, хорошо подвижных личинок с признаками пигментации шипов. Отсчитывали необходимое их количество и при помощи глазной пипетки наносили на слизистые оболочки носовых ходов ягнят. Материалом от одной мухи заражали равное количество животных в каждой из опытных групп.

С 30.07.1983 в течение 21 дня 6 ягнятам текущего года рождения давали внутрь хлорбутин — препарат, обладающий выраженным иммунодепрессорным действием (Петров, Манько, 1971), из расчета 1 мг/кг массы животного. Через 7 дней после начала дачи препарата 3 ягнят текущего года рождения заразили по 40 личинок и 3 ягнят по 80 личинок I стадии. Одновременно заразили ягнят, которым препарат не скармливали; 2 — по 40 и 2 — по 80 личинок I стадии. Две овцы прошлого года рождения, экспериментально суперинвазированные в 1982 г. 1000 и 500 личинками I стадии, 06.08.1983 заразили: первую — 80, вторую — 40 личинками I стадии. Спустя 30 дней всех животных убили и обследовали. У всех ягнят перед дачей препарата (после заражения и в конце опыта) проводили гематологические исследования и определяли наличие антител к личинкам овечьего овода в организме животных с помощью реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) и реакции диффузионной преципитации (РДП). Постановку РНГА осуществляли в микрообъеме по методике Степанковской (1972). Высокая чувствительность и специфичность этой реакции при эстрозе отмечена в литературе (Калинина, Сивков, 1978; Ihman, Niere, 1985). РДП ставили в 1 %-ном агаре фирмы «Дифко» с антигеном из личинок овечьего овода по Оухтерлони. Антиген готовили из обезжиренного гомогената личинок всех возрастов, разбавляли его 1 : 3 забуферным физраствором (рН 7.2), затем разрушали ультразвуком на аппарате УЗДН-1 при частоте 22 кГц в режиме оптимальной кавитации. Озвучивание проводили в течение 10—15 мин до визуального просветления взвеси. Озвученную взвесь центрифугировали при 6000 об./мин в течение 30 мин. После диализа надосадочную жидкость использовали в качестве антигена.

В 1986 г. 3 ягнятам текущего года рождения, трехкратно (15.07, 22.07, 30.07) ввели подкожно антиген в дозах соответственно по 0.4, 0.8, 1.6 мл на животное. Спустя два дня после последней иммунизации, этих животных и 3 ягнят, которым антиген не вводился, искусственно инвазировали из расчета по 40 личинок I стадии в каждый носовой ход. Спустя 72 дня всех животных убили и обследовали. Перед инъекцией антигена (перед заражением и убоем) определяли в сыворотках крови ягнят наличие антител методом иммуноферментного анализа (ИФА). Использовали непрямой вариант выявления антител в ИФА на твердой фазе (Баллад и др., 1982). Постановку иммуноферментной реакции (ИФР) осуществляли в полистероловых планшетах с пероксидазным конъюгатом. Учет реакции проводили визуально по титрам антител.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Большая часть личинок овечьего овода, попавших в организм хозяина, гибнет. Однако причины гибели пока еще недостаточно ясны. Известно, что в элиминации личинок принимают участие защитные силы организма хозяина, отводится определенная роль собственной резистентности личинок и их внутрипопуляционным отношениям. В опытах с применением иммунодепрессоров и специфического иммуностимулятора попытались оценить влияние защитных сил организма хозяина и внутрипопуляционных факторов на выживаемость личи-

нок. Гематологические исследования ягнят текущего года рождения перед началом опыта показали, что количество эритроцитов, лейкоцитов, лейкоцитарная формула находились в пределах нормы. РНГА и РДП дали отрицательные результаты. Сыворотки ягнят прошлого года рождения (см. таблицу, группа 5) реагировали положительно в РНГА в разведениях от 1 : 20 до 1 : 320. В РДП у них просматривалась четкая линия преципитации. При втором исследовании крови спустя три недели после начала дачи хлорбутина и 2 недели после заражения (1-я и 2-я группы животных) выявлена тенденция к снижению количества лейкоцитов (10—15 %) и легкий сдвиг влево лейкоцитарного профиля. РДП показала отрицательный результат, в РНГА сыворотки крови реагировали в разведениях 1 : 10—1 : 20 — подобный характер реакции свидетельствует о депрессии гуморального фактора иммунитета. В то же время, у зараженных ягнят (группа 3 и 4), которым препарат не давался, выявлен легкий лейкоцитоз, в РНГА у одного животного отмечены положительные реакции в разведениях от 1 : 80 до 1 : 320, у остальных от 1 : 40 до 1 : 160. При постановке РДП с сыворотками крови от животных 3 и 4 групп отмечены линии преципитации. Сыворотки овец, суперинвазированных в прошедшем году (группа 5), реагировали положительно в РНГА в титрах от 1 : 40 до 1 : 320, а в РДП давали четкие линии преципитации.

Результаты третьего гематологического и серологического исследований в конце опыта в группах 1—5 в основном оказались сходны со вторым.

У ягнят группы 6, исследованных перед инъекцией антигена, и группы 7, исследованных перед заражением методом ИФА, в сыворотках крови антител не обнаружено. У иммунизированных ягнят группы 6 перед заражением в ИФР отмечено наличие антител в титрах от 1 : 16 до 1 : 32, перед убоем титр антител оставался примерно на таком же уровне. У животных группы 7 перед убоем отмечалась четко выраженная реакция в титрах от 1 : 16 до 1 : 512.

Таким образом, гематологические и серологические исследования установили разнородность иммунобиологической активности опытных и контрольных групп животных, соответственно которой и распределилась выживаемость личинок. Так, у иммунодепрессированных животных (зараженных 40 экз.,

Выживаемость личинок овечьего овода в зависимости от состояния иммунной системы организма хозяина

| № группы | Состояние иммунной системы организма хозяина   | Заражено животных (n) | Доза заражения (экз.) | Выжило личинок      |          |                     |          |
|----------|--|-----------------------|-----------------------|---------------------|----------|---------------------|----------|
|          |  |                       |                       | в среднем экз., в % |          |                     |          |
|          |  |                       |                       | $M \pm m$           | $\sigma$ | $M + m$             | $\sigma$ |
| 1        | Депрессирована дачей хлорбутина по 1 мг/кг массы животного в сутки, в течение 3 недель | 3                     | 40                    | 24.3±3.1            | 5.5      | 60.8±7.9            | 13.7     |
| 2        | Без дачи препарата   | 3                     | 80                    | 50.3±4.1            | 7.1      | 62.9±5.1            | 8.9      |
| 3        |  | 3                     | 40                    | 14.3±0.6            | 1.1      | 35.8±1.6            | 2.8      |
| 4        |  | 3                     | 80                    | 21.0±4.1            | 7.2      | 26.2±5.1            | 9.0      |
| 5        | В том числе суперинвазированные в прошедшем году (из 3-й и 4-й групп) *                | 2                     | 40 и 80               | 15 и 13<br>14.0     |          | 37.5 и 16.3<br>23.3 |          |
| 6        | Стимулирована трехкратной инъекцией специфического антигена                            | 3                     | 80                    | 0.33±0.33           |          | 0.57 0.4±0.4        | 0.69     |
| 7        | Без инъекций антигена и дачи препарата   | 3                     | 80                    | 17.3±8.1            |          | 14.0 21.5±10.1      | 17.6     |

\* Включены соответственно в группы 3 и 4.

группа 1) выживаемость личинок находилась в пределах 45.0—70 %, в среднем  $60.8 \pm 7.9$  %, у зараженных 80 экз. (группа 2) выжило от 55.0 до 72.5 % в среднем  $62.9 \pm 5.1$  % личинок. В группах 3 и 4 животных (инвазированных 40 и 80 экз., без дачи препарата) выживаемость личинок составила соответственно  $35.8 \pm 1.6$  и  $26.2 \pm 5.1$  %. Из животных, суперинвазированных в прошедшем году: у овцы, зараженной 40 экз., выжило 15 личинок (37.5 %), у зараженной 80 экз. — 13 личинок (16.3 %). Выживаемость личинок в овцах группы 6, стимулированных введением специфического антигена, оказалась чрезвычайно низкой —  $0.4 \pm 0.4$  %. В то же время в группе 7, служившей контролем, через 72 дня выжило 52 личинки ( $21.5 \pm 10.1$  %).

В итоге выживаемость личинок у животных с депрессированной иммунной системой оказалась намного выше (60.8 и 62.9 %), чем у животных других групп. У овец суперинвазированных в прошедшем году выжило 23.3 % личинок, а у стимулированных ягнят выжило минимальное количество личинок (0.4 %).

У ягнят опытных групп 1 и 2 при помощи хлорбутина — препарата с выраженным цитостатическим действием (Петров, Манько, 1971) создан низкий фон иммунной активности. У ягнят текущего года рождения групп 3 и 4 оставался нормальный иммунный фон (животные не встречались в онтогенезе с паразитом), в группах 5 и 6 животные, ранее суперинвазированные и специфически, стимулированные, обладали соответственно высокой реактивностью. У ягнят первых двух групп, у которых был подавлен гуморальный фактор иммунитета, выживаемость личинок при заражении различной их численностью (40 и 80 экз.) оказались практически одинаковой —  $60.8 \pm 7.9$  и  $62.9 \pm 5.1$  %. В группах 3 и 4 выжило при заражении 40 экз. —  $35.8 \pm 1.6$  % личинок, при заражении 80 экз. —  $26.2 \pm 5.1$  %. Здесь заметно влияние фактора, зависящего от плотности. Из этого следует, что выживаемость, зависящая от плотности на ранних этапах паразитирования личинок, не связана с внутривидовыми отношениями, а есть не что иное, как уровень иммунного ответа организма хозяина на паразитирование различного количества личинок. В данный период мелкие размеры паразита (1—2 мм) и обширные поверхности слизистых оболочек — места обитания личинок при естественном уровне инвазии — исключают влияние на выживаемость, конкурентных отношений за пищу и пространство. В целом в опыте с увеличением уровня специфической иммунной активности организма овец, уменьшилась выживаемость паразитирующих личинок I стадии.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что большая часть личинок (65.0—78.4 %) гибнет на раннем этапе паразитирования (первые 1—2 мес.) и основной причиной гибели является специфический фактор иммунитета. Характер иммунного ответа зависит как от индивидуальных особенностей организма хозяина, так и от количества паразитирующих в нем личинок. Результаты опытов указывают на возможность специфической стимуляции иммунной системы организма хозяина и использования иммуностимуляторов в качестве средства ограничения численности овечьего овода.

В овцеводческих районах, где нет острой эпизоотической ситуации по эстрозу, специфическая стимуляция молодняка текущего года рождения, на наш взгляд, может служить приемлемым средством профилактики заболевания и позволит избежать ежегодного применения химических инсектицидов.

#### Л и т е р а т у р а

- Баллад Н. Е., Лейкина Е. С., Егоров А. М., Гаврилова Е. М., Зорихина В. И. Эффективность различных модификаций иммуноферментного метода с очищенными антигенами альвеококка в диагностике альвеококкоза. Сообщ. 2. Микрометод на плашках // Мед. паразитол. 1982, № 2. С. 15—20.
- Бреев К. А., Минарж Я. К. Закономерности взаимоотношений и регуляторных систем в популяциях паразита и хозяина у оводов // Тр. ЗИН АН СССР. Л. 1981. Т. 108. С. 31—41.

- К а л и н и н а Н. Г., С и в к о в Г. С. Иммунологическая диагностика эстроза овец // Вопросы ветеринарной арахноэнтомологии. Вып. 12. Тюмень, 1978. С. 26—30.
- М а р ч е н к о В. А. Некоторые закономерности развития личинок носоглоточного овода (*Oestrus ovis* L.) в Горном Алтае // Ветеринарная энтомология и акарология. М.: Колос, 1983. С. 76—84.
- М а р ч е н к о В. А. Некоторые закономерности развития овечьего овода в фазе личинки в Сибири // Антропогенные воздействия на сообщества насекомых. Новосибирск: Наука, 1985. С. 144—155.
- М и г у н о в И. М., Т и м о ф е е в П. В. Развитие личинок полостного овода в организме овец // Болезни овец и меры борьбы с ними. Чита, 1980. С. 145—146.
- П е т р о в Р. В., М а н ь к о В. М. Иммунодепрессоры. М.: Медицина, 1971. 299 с.
- С е м е н о в П. В. О развитии личинок носоглоточного овода овец при искусственном заражении ягнят // Изв. СО АН СССР. Новосибирск. 1981. Вып. 1. С. 104—109.
- С и в к о в Г. С. Прогнозирование сроков развития и численности популяции овечьего овода *Oestrus ovis* L. (Diptera, Oestridae) в Зауралье // Вопросы ветеринарной арахноэнтомологии. Вып. 15. Тюмень, 1978. С. 28—36.
- С т е п а н к о в с к а я Л. П. Изучение эффективности реакции непрямо́й гемагглютинации с эхинококковым диагностикумом // Мед. паразитол. 1972, № 14. С. 400—404.
- I l h m a n G., H i e p e Th. Immunologische Untersuchungen zur Intravitaldiagnostik der Oestrose // Mh. Veter.-Med. 1985. Bd 40, H. 9. S. 304—307.
- R o g e r s C. E., K n a p p F. W. Bionomics of the sheep bot fly *Oestrus ovis* L. // Environm. Entomol. 1973. Vol. 2. P. 11—23.

Биологический институт СО АН СССР,  
Новосибирск

Поступила 11.06.1987

---

## SURVIVAL OF LARVAE OF *OESTRUS OVIS* L. DEPENDING ON THE STATE OF IMMUNE SYSTEM OF THE HOST

V. A. Marchenko, V. P. Marchenko

### S U M M A R Y

In the experiments on artificial infection the survival of larvae of *Oestrus ovis* L. in sheep with depressed, normal and stimulated immune system was studied. The maximum number of larvae survived in immune depressed animals (62.9 %), the minimum number survived in immune stimulated animals (0.4 %). For the estimation of specific immune response the reaction of indirect hemagglutination (IHA), the reaction of diffused precipitation (RDP) and the immune ferment analysis (ELISA) were used.

---